第5卷第4期
1984年11月

动物学研究
ZOOLOGICAL RESEARCH

Vol.5, No.4
Nov., 1984

# $^{125}$I-碘化钠标记"去纤酶"及其在动物体内分布、排泄的研究

戴廷恩
(昆明军区总医院同位素科)

唐绍宗 肖昌华
(中国科学院昆明动物研究所)

## 摘　要

以氯胺T为氧化剂，制备了$^{125}$I-"去纤酶"，于皮下、肌肉、静脉不同途径给药，观察了在大鼠、小鼠、家兔体内各脏器及血液中不同时间的分布，排泄情况。发现$^{125}$I-"去纤酶"在动物血液中的半清除时间为3—4小时。不同途径的给药在动物体内各脏器中放射性分布达到高峰的时间不同，皮下注射为6小时，肌肉注射为3小时，静脉注射为1小时。各脏器中的分布以肾组织中积蓄最多。"去纤酶"的代谢产物大部分是经肾组织从尿中排除，少量随粪便排除。

"去纤酶"是中国科学院昆明动物研究所从尖吻蝮（*Agkistrodon acutus*）蛇毒中分离、纯化的一种新型酶制剂，它具有非常显著而确切的抗凝血作用(张洪基等，1980；1981；Ouyang et al., 1976)。经临床验证，对于治疗脑血栓形成，视网膜血管阻塞，冠心病等疾病有较好的疗效，具有较为安全、疗程短、无明显副作用等优点，是一种有发展前途的抗凝血新药。

为了进一步了解其药理作用，给临床提供更可靠的参考资料，本文用$^{125}$I-碘化钠对"去纤酶"进行了标记，研究了在动物体内的分布、排泄情况现报道于下。

## 材料及方法

（一）本实验所用的"去纤酶"由中国科学院昆明动物研究所提供。$^{125}$I-碘化钠由中国科学院原子能研究所供给，放射性浓度为151mCi/ml。

Sephadex G-25为进口试剂，氯胺T、偏重亚酸钠、碘化钾、三羟甲基氨基甲烷等

本文1983年9月19日收到，1984年5月8日收到修改稿。

均属国产分析纯试剂。

测量仪器是国产408型定标器—603型井型γ烟烁测量器。

（二）$^{125}$I-“去纤酶”的制备：以氯胺T为氧化剂，催化蛋白质碘化的方法对“去纤酶”进行放射性碘标记。取上述“去纤酶”干粉5毫克，溶解于Tris—HCl缓冲液（0.2$M$，pH7.5）0.1毫升中，向其中加入$^{125}$I-碘化钠2.9毫居里（40微升），在电磁力搅拌器上充分混合1分钟，再加入氯胺T（0.8%）0.1毫升，反应体积为0.24毫升。待反应3分钟后即加入偏重亚硫酸钠（0.4%）0.1毫升以终止反应。反应终止后再加入碘化钾（1%）0.1毫升，总反应体积为0.44毫升。经Sephadex G-25柱（1×35厘米）层析，用Tris-HCl缓冲液洗脱。流速4秒钟1滴，420秒收集1管，在408型定标器—603井型γ烟烁器上测量各管放射性强度。使标记的$^{125}$I-“去纤酶”与$^{125}$I-碘化钠分离，收集A峰各管，即为$^{125}$I-“去纤酶”液。

（三）实验动物：

1.成年昆明品种小白鼠，体重25—30克，雌雄兼用，每组4只，给药前一天用碘化钾封闭甲状腺，每只肌肉注射$^{125}$I-“去纤酶”液0.2毫升，剂量为10微居里，（内含“去纤酶”20微克）。不同时间用乙醚处死，测定血液及各脏器中的放射性分布。

2.成年大白鼠，体重200—250克，雌雄兼用，给药前一天用碘化钾封闭甲状腺，每只皮下注射$^{125}$I-“去纤酶”液0.3毫升，剂量为15微居里，（内含“去纤酶”30微克），不同时间用乙醚处死，每批3只，测量血液及各脏器中的放射性分布。

3.健康白色家兔，体重2—2.5公斤，雌雄兼用，耳静脉注射$^{125}$I-“去纤酶”液0.7毫升，每只剂量为35微居里（内含“去纤酶”75微克），不同时间注射空气处死，每组3只，测量血液、尿液、粪便、大脑、小肠、及体内各脏器中的放射性分布。

（四）样品的制备及测量方法：不同时间处死动物，取全血0.1毫升，加0.2毫升1000单位/ml的肝素液稀释，尿液0.1毫升，粪便0.1克，心、肝、肺、肾、脾、脑、小肠各湿组织0.1克，直接在408型定标器—603井型γ烟烁器上测量其放射性强度（cpm数/分）

## 结 果

（一）以氯胺T氧化法标记“去纤酶”，经Sephadex G-25柱层析将$^{125}$I-“去纤酶”与$^{125}$I-碘化钠分离结果见图1。

经柱层析得到A峰及B峰，A峰即为标记的$^{125}$I-“去纤酶”液，五次标记样品中的最高标记率为80.8%，最低标记率为76.4%，平均标记率为78.3%。放射性比度平均为0.46μCi/μg。经凝结活性测定表明被标记的$^{125}$I-“去纤酶”未丧失生物活性。冰箱保存26天后测定碘的游离率为34%，凝结活性仍在正常的指标内。

（二）皮下注射$^{125}$I-“去纤酶”液，不同时间处死，在大鼠体内各脏器及血液中的放射性分布见图2。

从图2可以看出皮下注射$^{125}$I-“去纤酶”后6小时在大鼠体内各脏器及血液中达到高峰，12小时开始下降，在达到高峰时以肾组织中的放射性聚集最高，其余各脏器之

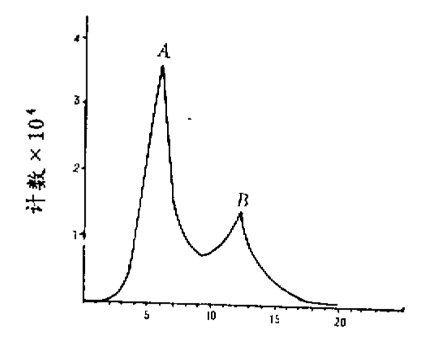



图1　$^{125}$I-碘化钠标记"去纤酶"经Sephadex G-25柱层析图

A峰即$^{125}$I-"去纤酶"、B峰即$^{125}$I-碘化钠

间的比是：肾＞肺＞肝＞血＞心＞脾。

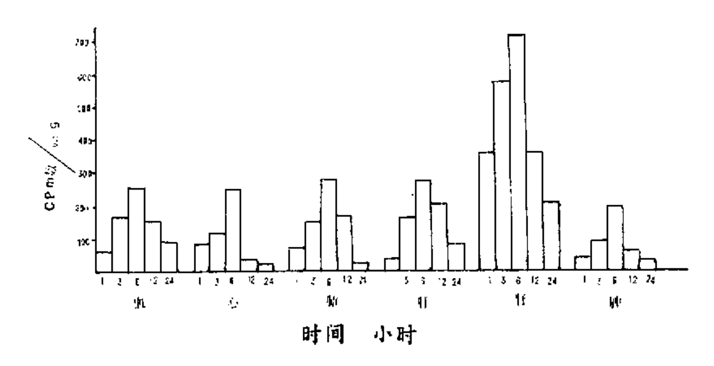



图2　皮下注射$^{125}$I-"去纤酶"不同时间在大鼠体内各脏器及血液中的放射性分布

（三）肌肉注射$^{125}$I-"去纤酶"后不同时间处死，在小鼠体内各脏器及血液中的放射性分布结果见图3。

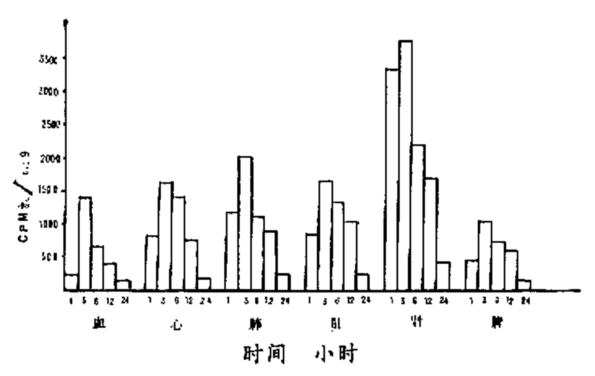



图3　肌肉注射$^{125}$I-"去纤酶"不同时间在小鼠体内各脏器及血液中的放射性分布

从图3可以看出肌肉注射$^{125}$I-"去纤酶" 后3小时在小鼠体内各脏器及血液中的放射性分布达到高峰，6小时开始下降，直到48小时接近本底。达到高峰时以肾组织中的放射性聚集最高，其它脏器及血液之间的比是：肾＞肺＞肝＞心＞血＞脾。

（四）于家兔耳静脉注射$^{125}$I-"去纤酶"不同时间在血液中的分布及清除时间见图4。

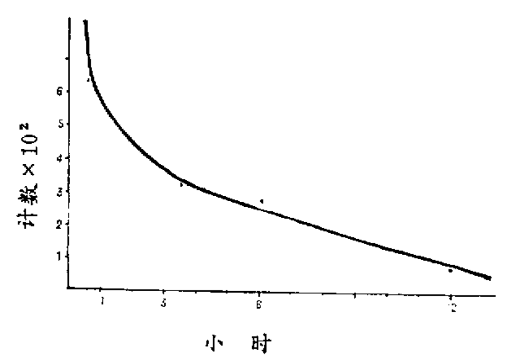



图4 静脉注射$^{125}$I-"去纤酶"在家兔血液中的分布及清除时间图
半清除时间为3—4小时

从图4可以看出，静脉注射$^{125}$I-"去纤酶"在家兔血液中的放射性分布高峰在40分钟内开始慢慢下降，从血液中清除一半的时间是3—4小时。

（五）静脉注射$^{125}$I-"去纤酶"不同时间在家兔体内各脏器及血液、大脑、小肠、尿液，粪便中的放射性分布及排泄情况见表1与图5。

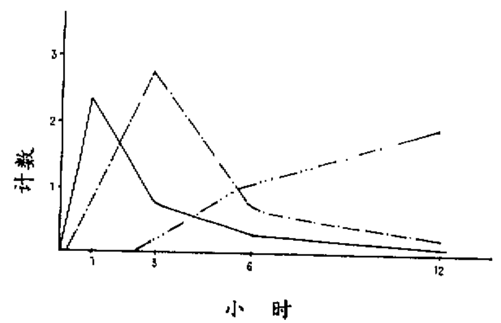



图5 静脉注射$^{125}$I-"去纤酶"在家兔体内的排泄情况
——肾组织中的放射性分布计数×10⁴
—·—·—尿中的放射性分布计数×10⁵
—……—粪便中的放射性分布计数×10³

从表1的结果可以看出静脉注射$^{125}$I-"去纤酶" 在家兔血液中的高峰时间是40分钟，而在各脏器中达到高峰的时间是1小时，其分布比是：肾＞脾＞肝＞心＞肺，在尿及小肠中达到高峰的时间是3小时，在粪便中12小时高峰还未下降，大脑组织中的放射

表 1 静脉注射$^{125}$I-“去纤酶”不同时间在家兔各脏器及血液、脑、小肠、尿、粪便中的放射性分布

| 时间 | 血cpm/0.1ml | 心cpm/0.1g | 肺cpm/0.1g | 肝cpm/0.1g | 肾cpm/0.1g | 脾cpm/0.1g | 脑cpm/0.1g | 小肠cpm/0.1g | 尿cpm/0.1ml | 粪cpm/0.1g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ | $\bar{x}\pm SD$ |
| 15分钟 | 947±24.0 | 1130±7.5 | 485±15.4 | 1702±8.2 | 7956±583.4 | 1672±115.0 | 64±28.1 | 445±3.6 | | |
| 40分钟 | 820±117.2 | 1146±81.1 | 980±311 | 1917±131.9 | 13611±798 | 2897±266.9 | 85±35.1 | 693±25.8 | | |
| 1小时 | 830±48.1 | 1626±20.5 | 1591±7.1 | 2528±51.6 | 21902±4333 | 5579±30.4 | 142±3.5 | 1023±112.4 | 137269 | |
| 3小时 | 456±84.8 | 1493±38.9 | 1492±3.5 | 1742±263.7 | 7177±359.2 | 2965±366.3 | 17±2.8 | 1275±10.6 | 240747±7247 | 420±9.2 |
| 6小时 | 400±12 | 1162±68.5 | 1018±14.1 | 1168±5.7 | 2683±61.5 | 2090±12 | 12±5.6 | 965±60.9 | 49831 | 1278±18.0 |
| 12小时 | 294±7.1 | 404±19.1 | 430±26.8 | 499±17.7 | 1452±17.7 | 978±44.5 | 7±2.8 | 809±2.1 | 27164±38.2 | 1847±35.3 |

性分布都在本底范围内。

从图5还可以看出当肾组织中的放射性分布达到高峰时，尿液中的放射性分布上升，当肾组织中的放射性分布下降时而尿液中的放射性分布达到高峰，随时间的延长放射性分布逐渐减少。粪便中的放射性到12小时还处于高峰阶段，从数量上表明静注$^{125}$I-"去纤酶"后的代谢产物主要是从尿中迅速排除，少量随粪便排除。

## 讨 论

（一）放射性同位素示踪法研究药物的分布排泄是一种简单准确的方法。用放射性同位素$^{125}$I-碘化钠标记蛇毒蛋白质并研究在动物体内的分布、排泄，国内外都有报道（王晴川，1982；去纤酶临床研究协作组，1982；陈明等，1981）。用$^{125}$I-碘化钠标记"去纤酶"并研究在动物体内的分布排泄为首次报道。本文用$^{125}$I-碘化钠对"去纤酶进行了标记(Gumaa et al., 1974; Shu et al., 1968,)标记率(78.3%)比国外Greenwood等标记的标记率70%(Greenwood et al., 1963)和国内陈明等作的60%以上都要高，这可能与"去纤酶"本身的分子结构、加入放射性同位素和样品量的多少、反应条件等因素有关。标记的$^{125}$I-"去纤酶"不丧失生物活性，经长期冰箱保存，碘的游离率仅为34%，凝结活性也在正常指标内。表明$^{125}$I-碘化钠与"去纤酶"的结合是稳定的，由此可见该标记方法是较好的，为今后进一步对$^{125}$I-"去纤酶"的研究提供了一定的基础。

（二）本文通过皮下、肌肉、静脉不同的给药方法注射$^{125}$I-"去纤酶"在不同的动物体内，观察了不同时间，不同动物体内各脏器中的放射性分布，结果表明肾组织中的放射性聚集最高。王晴川等用粗毒作的结果是以肝组织聚集最高，其粗毒的毒性大，对肝有影响，而本文结果是用已经纯化了的无毒性的"去纤酶"，对肝功无影响，所以结果不同。聚集于肾组织，可能是"去纤酶"代谢产物经肾排除，其"去纤酶"的代谢途径如何，由于条件的限制，有待于进一步的研究。

（三）不同的给药方法在不同动物各脏器及血液中的放射性分布达到高峰的时间不同，皮下注射为6小时，肌肉注射为3小时，静脉注射在血液中为40分钟，而在各脏器中为1小时。表明不同的给药方法注射$^{125}$I-"去纤酶"是经血液到达各脏器，并有一个吸收的过程。而临床上对患者的不同情况是否可采用不同的给药方法，这有待于进一步的研究。

大脑组织中的放射性分布都在本底范围内，表明在正常情况下，由于血脑屏障的存在，影响血液与组织间物质的自由交换，血液中的放射性药物难于到达脑组织，当患脑部疾病（如：肿瘤、炎症、血管阻塞性疾病等）时，使血脑屏障功能损伤或破坏，标记的$^{125}$I-"去纤酶"是可以到达大脑组织的。因本实验用的动物都是正常的所以大脑组织的放射性分布都在本底范围内。

（四）静注$^{125}$I-"去纤酶"后在家兔血液中的半清除时间为3—4小时，这与MARTINDALE氏大药典所说的Ancrod从血浆中的半清除时间大约3—5小时是一致的。

（五）实验还观察到$^{125}$I-"去纤酶"注射到动物体内后，当肾组织中的放射性开

始下降时，尿液中的放射性聚集达到高峰，而粪便中的放射性分布直到12小时都还在高峰阶段。这可能表明注射后的$^{125}$I-"去纤酶"的代谢产物主要是经肾组织从尿中迅速排除，少量的是随粪便排除。

通过实验我们认为：1.不同的给药方法注射$^{125}$I-"去纤酶"后在动物的肾组织中聚集最多。

2.静脉注射$^{125}$I-"去纤酶"从血液中的半清除时间为3－4小时。

3.$^{125}$I-"去纤酶"的代谢产物主要是经肾组织从尿中迅速排除，少量的随粪便排除。

4.在正常情况下，$^{125}$I-"去纤酶"注射到动物体内后，不能通过血脑屏障到达大脑组织的。

## 参考文献

王晴川 1982 $^{131}$I标记尖吻蝮蛇毒在大鼠体内分布和清除的初步观察。两栖爬行动物学报 1(1):37.

去纤酶临床研究协作组 1982 去纤酶治疗闭塞性血管病333例临床报告。中华医学杂志 62 (6): 324。

陈明等 1981 碘-125标记蝮蛇毒蛋白在小鼠体内的分布。动物学研究 2 (4): 99。

张洪基等 1980 尖吻蝮蛇毒的分离及其生物活性的研究。动物学研究 1 (2): 157。

张洪基等 1981 尖吻蝮蛇毒去纤维蛋白酶对家犬体内抗凝血作用。动物学研究 1 (2): 163。

Greenwood, F. C. and Hunter, W. M. 1963 The preparation of $^{131}$I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochm*. J. 89, 114.

Gumaa, K. A. et al. 1974 Distribution of $^{125}$I-labelled Bitis arietans venom in the rat. *Toxicon* 12, 565.

Ouyang, C. and Teng, C. M. 1976 The effects of the purified thrombin-like and anticoagulant prici-ples of Agkistrodon acutus venom on blood coagulation in vivo. *Toxicon* 14, 49.

Shü, I. C. et al 1968 Study on $^{131}$I-labelled Cobrotoxin. *Toxicon* 5, 295.

Wade, A. 1977 Martindale The pharmacopoeia. Lond: pharmaceutical Pr. P. 726.

# STUDY ON DISTRIBUTION AND EXCRETION OF $^{125}$I-LABELLED "DEFIBRINASE" *IN VIVO* OF ANIMALS

Dai Tinen

*(Department of Isotope the Hospital of Kunming Military Region)*

Tang Shaozong Xiao Changhua

*(Kunming Institute of Zoology Academia Sinica)*

$^{125}$I-labelled "defibrinase" had been prepared by oxidant-chloroamine T. Drug is given in different ways: subcutaneous, muscle, intravenous injection, the cases of distribution and excretion in different times in internal organs and in blood of rats, mice, and rabbits had been observed. It had been found that the time which $^{125}$I-labelled "defibrinase" needed to eliminate half of its radioactive dose from blood in the animals was three or four hours. The times when radioactive distribution reached to its highest point by different ways of giving drugs in each internal organs of animals were varied; six hours for subcutaneous injection, three hours and one hours for muscl and intravenous injection. Compared with other parts of the accumulation of the $^{125}$I-labelled "defibrinase" in kidney is the highest.

The large quantity of by-products of "defibrinase metabolids" is eliminated from urine by kidney, the rest of it by excrements.